

AKTIVITAS ENZIM LIPASE ALKALI DARI BAKTERI DALAM SURFAKTAN

Oleh : V. Sri Pertiwi Rumiyati¹ dan Retno Indrati²

ABSTRACT

Activity and stability of alkaline lipase from bacteria (strain AS, KB and SP) were studied in containing of surfactants at 0,05% and 0,10%. The surfactants were used in research, these were consisted of four anionic surfactants (SDS, niaproof, n-lauroyl sarcosine, dehydrocholic acid), three cationic surfactants (cetyl trimethyl ammonium bromide, cetyl pyridium chloride, cetyl dimethyl ammonium bromide) and three nonionic surfactants (Triton X-100, tergitol, and nonidet P-40). Production of enzyme was produced in initial medium pH 7,5; incubation at 37°C for 48 h. These research showed that activity of alkaline lipase from strain AS-1; AS-2; KB-4; SP-2 and SP-13 was stable in containing of anionic surfactants, cationic surfactants and nonionic surfactants at 0,05% and alkaline lipase from KB-8 and SP-1 were showed decrease of activity (relatif activity < 80%). Strain KB-4 was produced alkaline lipase which stable in containing of anionic surfactants, cationic surfactants and nonionic surfactants at 0,05% & 0,10%. It was had high activity (activity relatif 90-125%).

INTISARI

Aktivitas dan stabilitas enzim lipase alkali dari bakteri yang berasal dari isolat AS, KB dan SP dipelajari dalam kondisi yang mengandung surfaktan dengan konsentrasi akhir 0,05% dan 0,10%. Surfaktan yang digunakan dalam penelitian adalah empat jenis surfaktan anionik (SDS, niaproof, n-lauroyl sarcosine, dehydrocholic acid), tiga jenis surfaktan kationik (cetyl trimethyl ammonium bromide, cetyl pyridium chloride, cetyl dimethyl ammonium bromide) dan tiga jenis surfaktan nonionik (triton X-100, tergitol, dan nonidet P-40). Produksi enzim lipase dilaksanakan pada media dengan pH awal 7,5, suhu inkubasi 37°C selama 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim lipase alkali yang berasal dari isolat AS-1, AS-2, KB-4, SP-2 dan SP-13 relatif stabil pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik dan non ionik 0,05%, dan yang berasal dari KB-8 dan SP-1 aktivitasnya menurun (aktivitas relatif < 80%). Isolat KB-4 memproduksi enzim lipase alkali stabil pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik dan non ionik 0,05% dan 0,10%. Enzim tersebut mempunyai aktivitas relatif tinggi (90-125%).

PENDAHULUAN

Enzyme lipase (EC 3.1.1.3) adalah eazim yang menghidrolisis ester pada bidang antara minyak-air dalam substrat yang tidak larut air atau sistem yang heterogen (Shanani, 1975 dalam Reed, 1984). Substrat bagi eazim lipase adalah

1. Balai Besar Litbang Kulit, Karet dan Plastik (BBKKP), Yogyakarta.
2. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

digliserida, monogliserida, asam lemak bebas dan gliserol. Sumber enzim lipase dapat diperoleh dari jamur (Brockhoff dan Jensen, 1974; Ohnishi dkk., 1994; Xia dkk., 1996) serta dari bakteri seperti *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Staphylococcus* dan lain-lain (Crueger dan Crueger, 1989; Lin dkk., 1996). Lipase alkali adalah enzim lipase yang aktif dalam kondisi alkali, enzim tersebut telah dapat diekstrak dari jenis bakteri seperti *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Alcaligenes spp.*, dan lain-lain (Lin dkk., 1996; Kojima dkk., 1994; Lesuisse dkk., 1993; Kokusho dkk., 1982). Enzim tersebut dapat diaplikasikan dalam berbagai industri seperti industri penyamakan kulit untuk penghilangan minyak/lemak alami kulit, industri minyak dan industri deterjen untuk meningkatkan daya pencucian.

Aktivitas enzim lipase dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi enzim, pH, suhu, adanya ion dan surfaktan (Linfield dkk., 1984; Khor dkk., 1986; Hammond dan Glantz, 1988). Pengaruh surfaktan terhadap enzim lipase dipelajari oleh Xia dkk (1996) dan Lin dkk (1996) pada mikroba yang berbeda yaitu *Penicillium cyclopium* dan *Neurospora TT-241*. Adanya surfaktan dalam enzim lipase akan berpengaruh terhadap aktivitas enzimnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim lipase dengan adanya surfaktan adalah jenis surfaktan, konsentrasi surfaktan yang ditambahkan serta jenis enzim yang digunakan (Xia dkk., 1996; Lin dkk., 1996). Metoda kuantitatif aktivitas enzim lipase dapat dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu mengukur perubahan fisik dalam sistem reaksi, menguji alkohol yang dibebaskan dan menguji asam lemak yang dibebaskan (Brockhoff dkk, 1974). Dari ketiga metode tersebut yang paling umum digunakan adalah metoda yang ketiga yaitu menguji asam lemak yang dibebaskan. Beberapa metoda analitik yang dapat digunakan untuk menghitung aktivitas lipase antara lain dengan metoda Stat-Potentiometric, metoda gel silica dan metoda Manometric Warburg (Budiatman dkk, 1993). Ketiga metode tersebut prinsip dasarnya menghitung jumlah asam lemak bebas yang dibebaskan.

Bakteri yang digunakan untuk penelitian diisolasi dari kulit hewan, penelitian isolasi bakteri penghasil enzim lipase dari kulit telah dilaporkan dalam pape sebelumnya. Dalam paper ini akan dikaji tentang aktivitas enzim lipase alkali dari bakteri dengan adanya berbagai jenis surfaktan pada konsentrasi yang berbeda.

MATERI DAN METODA

Materi Penelitian

1. Mikroorganisme

Isolat yang digunakan untuk penelitian adalah isolat AS-1 AS-3, KB-4 KB-8 SP-1, SP-2 dan SP-13 diisolasi dari kulit ayam, kambing dan sapi (Rumiyati dan Indrati, 1998)

2. Surfaktan

Surfaktan yang digunakan terdiri atas tiga jenis yaitu anionik, kationik dan no

ionik. Jenis anionik yaitu SDS, niaproof, n-lauroyl sarcosine, dehydrocholic acid; jenis surfaktan kationik yaitu cetyl trimethyl ammonium bromide, cetyl pyridium chloride, cetyl dimethyl ammonium bromide; dan surfaktan non ionik yaitu Triton X - 100, tergitol, dan nonidet P - 40.

- Media untuk analisa terdiri atas larutan buffer Tris-HCl pH 8,0, minyak olive, polivinyl alkohol, CaCl_2 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, larutan NaOH 0,01 N, NaOH 0,8 N, asam oksalat, indikator phenolphthalein.
- Media untuk produksi enzim
Setiap liter media mengandung 0,50% pepton, 0,05% MgSO_4 , 0,10% KH_2PO_4 , 0,10% NaNO_3 , 0,50% sorbitol dan 1,00% v/v minyak sawit (Indarti dan Rumi-yati, 1998).

Alat Penelitian

Alat penelitian meliputi inkubator (Fisher Scientific), inkubator bergoyang, ultrasentrifuge (combi), pH-meter (Jenway), timbangan analitik, vortex, penangas air, pipetman Gilson, thermometer, stop watch, serta peralatan gelas.

Metoda Penelitian

Penelitian dilakukan dalam tiga tahap yaitu :

1. Produksi enzim

Sel dari setiap isolat ditumbuhkan pada media produksi (pH 7,5) dalam inkubator bergoyang, selama 48 jam, suhu 37°C . Kultur media yang diperoleh disentrifuse pada 2000g, suhu 4°C selama 20 menit. Supernatan yang berisi enzim ekstrakseluler merupakan enzim kasar, kemudian diuji aktivitas enzim lipasenya pada kondisi yang mengandung surfaktan.

2. Uji aktivitas enzim lipase pada kondisi yang mengandung surfaktan

Setiap enzim kasar hasil ekstraksi dari setiap isolat yang digunakan, diuji aktivitas enzimnya pada kondisi yang mengandung surfaktan dengan variabel jenis surfaktan dan konsentrasi akhir surfaktan dalam emulsi minyak yaitu 0,05% dan 0,10%.

3. Pengujian enzim

Aktivitas enzimnya ditentukan menggunakan metoda Razak dkk (1995) dan Koh no dkk (1994) dengan sedikit modifikasi. Campuran antara 4 ml emulsi minyak olive : 40 μl CaCl_2 2H 2O 20 mM; diinkubasikan pada suhu 37°C selama 5 menit, dalam penangas air bergoyang, 2ml larutan enzim yang telah mengandung surfaktan ditambahkan kedalam substrat kemudian inkubasi dilanjutkan selama 30 menit. Untuk menghentikan reaksi diambil 6ml etanol, dimasukkan dalam campuran tersebut, kemudian dititrasi dengan NaOH 0,01 N, menggunakan indikator PP sampai pH 9,0. Untuk perlakuan blanko, enzim yang ditambahkan ke dalam substrat dihentikan terlebih dahulu aktivitas enzimnya, dengan menambah etanol. Emulsi minyak olive disiapkan dengan mencampur polyvinyl alcohol 2% dalam buffer Tris-HCl pH 8,0 dengan perbandingan minyak olive : PVA 1:2 v/v.

Satu unit aktivitas enzim lipase didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang membebaskan 1 μmol equivalent asam lemak bebas dari minyak olive dalam satu menit pada kondisi analisa (Xia dkk, 1996). Aktivitas enzim lipase dapat dihitung dengan rumus :

$$U/ml = \frac{10 \times (S - B) \times f}{VT}$$

Keterangan :

S = volume NaOH yang digunakan untuk titrasi sampel

B = volume NaOH yang digunakan untuk tritasi blanko

f = faktor pengenceran enzim lipase

V = volume enzim lipase yang diuji (ml)

T = waktu reaksi

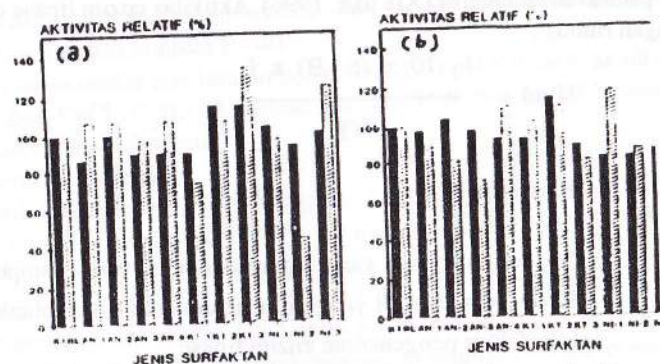
10 = μmol NaOH yang terdapat dalam 1 ml 0,01 N NaOH

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian aktivitas enzim lipase pada kondisi yang mengandung surfaktan dianalisa berdasarkan aktivitas relatif yaitu perbandingan antara aktivitas enzim lipase yang diuji pada kondisi yang mengandung surfaktan dengan aktivitas enzim lipase yang diuji pada kondisi tanpa mengandung surfaktan, dan dinyatakan sebagai persen. Aktivitas relatif 100% adalah aktivitas enzimlipase yang diuji tanpa perlakuan dengan surfaktan (kontrol).

Pengaruh surfaktan terhadap aktivitas relatif enzim lipase disajikan pada gambar 1 . sampai 3 . Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pemakaian SDS 0,05% dan 0,10% relatif stabil, tidak mempengaruhi aktivitas enzim lipase yang berasal dari isolat AS (Gambar 1.) Isolat KB (Gambar 2.), Isolat SP-1 dan SP-13 (Gambar 3a.dan 3c.) . Hal tersebut ditunjukkan dengan aktivitas relatif > 80% , sedang terhadap aktivitas enzim lipase yang berasal dari isolat SP-2 (Gambar 3b.) menurunkan aktivitas (aktivitas relatif <80%) . Hasil tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Lin dkk (1996) yang melaporkan bahwa pemakaian SDS dengan konsentrasi 0.1 % (b/v) menghambat aktivitas enzim lipase yang berasal dari *Neurospora sp* TT -241, sedang peneliti yang lain melaporkan bahwa penggunaan surfaktan anionik (SDS) pada konsentrasi yang rendah (3.2-40 μM) meningkatkan aktivitas enzim dari *Penicillium cyclopium*, sedang pada konsentrasi

lebih besar 5.6 μ M SDS menurunkan aktivitas enzim secara linier (Xia dan Nnanna, 1996).



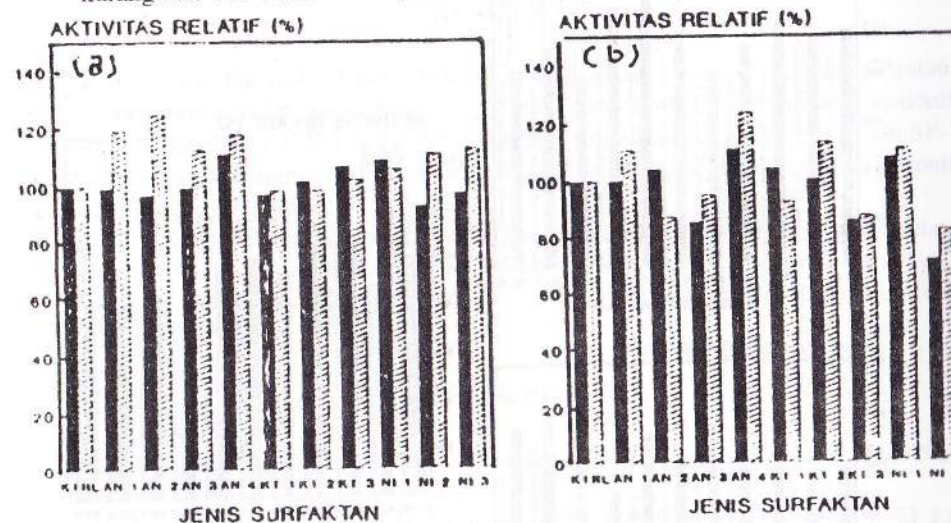
Gambar 1. Pengaruh surfaktan terhadap aktivitas enzim lipase dari AS-1 (a) dan AS-3 (b).

AN-1, SDS; AN-2, Niaproof; AN-3, N-lauroyl sarcosine; AN-4, Dehydrocholic acid; KT-1, Cetyl trimethyl ammonium bromide; KT-2, Cetyl pyridium chloride; KT-3, Cetyl dimethyl ammonium bromide; NI-1, Triton X-100; NI-2 Tergitol dan NI-3, Nonidet P-40.

Pemakaian n-lauroyl sarcosine 0.10% berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase dari AS-3, SP-1 dan SP-13, sedang dehydrocholic acid berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase dari SP-13 yaitu menurunkan aktivitas relatifnya. Pada prinsipnya surfaktan anionik pada konsentrasi rendah berinteraksi dengan protein lipase membentuk lipase surfaktan kompleks yang menjadi lebih aktif dibanding lipase, sehingga akan memecah substrat dan meningkatkan aktivitas lipolisis, namun pada konsentrasi yang tinggi akan memacu perubahan struktur dan mempengaruhi sisi aktif sehingga surfaktan tersebut menjadi penghambat.

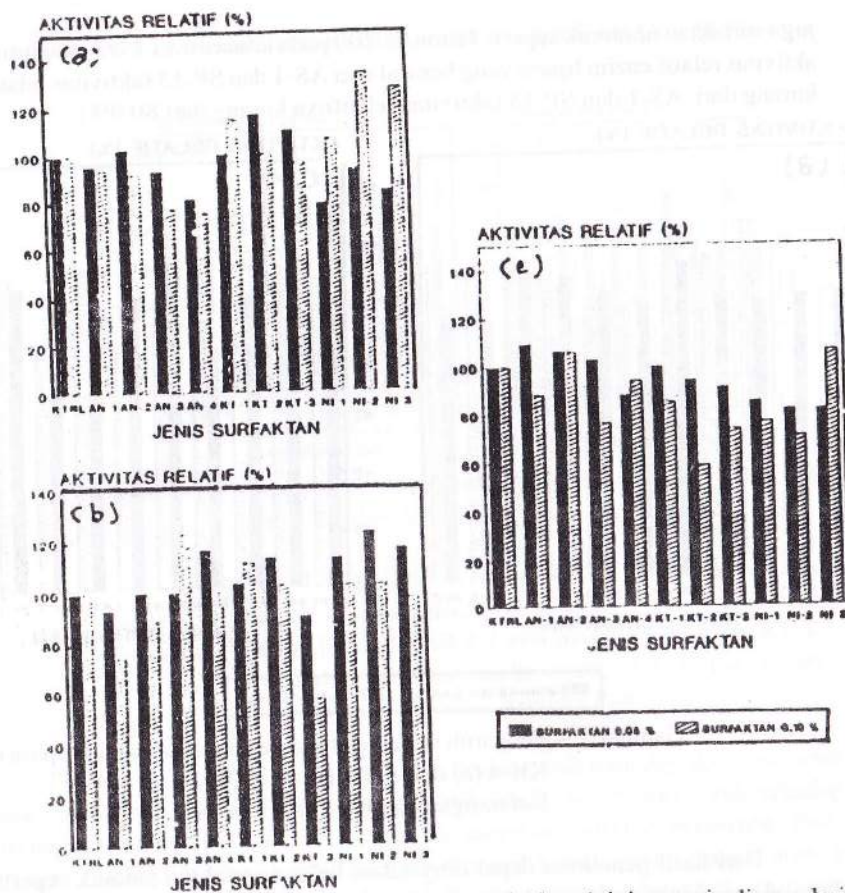
Surfaktan kationik pada pemakaian 0.05% relatif tidak berpengaruh terhadap semua enzim lipase dari isolat AS, KB dan SP hal tersebut ditunjukkan dengan aktivitas relatifnya lebih besar dari 80.0%, sedang pada konsentrasi 0.10% pemakaian surfaktan kationik (cetyl trimethyl ammonium bromide) berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase yang berasal dari isolat AS-1, surfaktan cetyl dimethyl ammonium bromide berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase dari SP-2 dan SP-13 sedangkan cetyl pyridium chloride berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase dari SP-13 yaitu menurunkan aktivitas relatifnya (Gambar 3b. dan Gambar 3c.), demikian

juga surfaktan nonionik seperti Triton X-100 pada konsentrasi 1.0%, menurunkan aktivitas relatif enzim lipase yang berasal dari AS-1 dan SP-13 (aktivitas relatifnya kurang dari AS-1 dan SP-13 (aktivitas relatifnya kurang dari 80.0%).



Gambar 2. Pengaruh surfaktan terhadap aktivitas enzim lipase dari KB-4 (a) dan KB-8 (b)
Keterangan gambar lihat Gambar 1.

Dari hasil penelitian dapat dinyatakan bahwa surfaktan anionik seperti n-lauroyl sarcosine, surfaktan kationik seperti cetyl pyridium chloride; cetyl dimethyl ammonium bromide dan nonionik yaitu Triton X-100 dan tergitol berpengaruh terhadap aktivitas relatif enzim lipase dari isolat SP-13 yaitu menurunkan aktivitas relatifnya. Hasil tersebut berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Lin dkk (1996) yang melaporkan bahwa surfaktan nonionik seperti Triton X-100, Tween 80 dan Span 80 pada pemakaian 0.10% (b/v) berfungsi sebagai aktivator pada enzim yang dihasilkan oleh *Neurospora sp.* TT-241



Gambar 3. Pengaruh surfaktan terhadap aktivitas enzim lipase dari SP-1 (a), SP-2 (b) dan SP-13 (c).
Keterangan gambar lihat Gambar 1.

Secara umum dapat dikatakan bahwa aktivitas enzim lipase alkali yang berasal dari bakteri (Isolat AS, KB dan SP) (pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik 0,05 % aktifitasnya relatif stabil (aktifitas relatif < 80 %), sedang surfaktan nonionik mempengaruhi aktifitas enzim lipase bakteri yang berasal dari isolat KB-8 dan SP-1 yaitu menurunkan aktifitasnya (aktifitas relatif < 80%). Isolat yang memproduksi enzim lipase alkali dan mempunyai aktivitas enzim relatif tinggi serta stabil pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik dan nonionik 0,05% dan 0,10 % adalah isolat KB-4, sedang isolat AS-1 hanya stabil pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik dan nonionik 0,05%. Berdasarkan aktifitas relatifnya, enzim lipase alkali yang mempunyai aktivitas relatif tinggi (90-125) serta relatif stabil pada kondisi yang mengandung surfaktan

anionik, kationik dan nonionik 0,05% dan 0,10% adalah enzim yang berasal dari isolat KB-4.

KESIMPULAN

Aktivitas enzim lipase alkali yang berasal dari Isolat AS, KB dan SP relatif stabil pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik dan nonionik 0,05%, kecuali dari KB-8 dan SP-1. Enzim yang diproduksi dari KB-8 dan SP-1 aktivitasnya menurun pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik dan nonionik 0,05%.

Isolat yang memproduksi enzim lipase alkali dan mempunyai aktivitas relatif tinggi (90-125%) serta relatif stabil pada kondisi yang mengandung surfaktan anionik, kationik dan nonionik 0,05% dan 0,10% adalah enzim yang berasal dari isolat KB-4.

DAFTAR PUSTAKA

- Brockerhoff, H., dan R.G. Jensen., 1974. *Lipolytic Enzymes*. Academic Press. New York.
- Budiartman, S., D. Fardiaz., B. Nurtama., D. Robiatul., dan M. Gesang., 1993. Laporan Penelitian Proses Interesterifikasi Minyak Sawit dan Minyak Industri Sawit untuk Mendapatkan Produk-produk yang Bernilai Tinggi Tahap II: Penelusuran Teknik Proses. Proyek Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Crueger, W., dan A. Crueger., 1989. *Biotechnology. A Textbook of Industrial Microbiology*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA.
- Hammond, E.G., dan Glatz., 1988. *Biotechnology Applied to Fats and Oils* didalam *Food Biotechnology -2*. Ed. R.D. King dan P.S.J. Cheetham. Elsevier Applied Science, New York.
- Indarti, R., Rumiya, V.S.P., dan Utami, T., 1998. Production of Alkaline Lipase from *Kluyvera* KB-4. *Indonesian Food and Nutrition Progress*. Vol. 5 No. 1. Page 10 - 14.
- Khor, H.T., N.H. Tan., dan C.L. Chua., 1986. Lipase Catalyzed Hydrolysis of Palm Oil. *JAOCS*, 63 : 538 - 540.
- Kohno, M., W. Kugimiya., Y Hashimoto., and Y. Morita., 1994. Purification, Characterization, and crystallization of Two Types of Lipase from *Rhizopus niveus*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 58 : 1007 - 1012.

- *) Aktivitas enzim lipase tanpa perlakuan dengan surfaktan
 **) Hasil rata-rata 2 ulangan perlakuan dengan dua ulangan analisis

Lanjutan

JENIS SURFAK TANS	AKTIVITAS RELATIF (%)					
	ISOLAT SP-1		ISOLAT SP-2		ISOLAT SP-13	
	0.05 %	0.10 %	0.05 %	0.10 %	0.05 %	0.10 %
KONTROL*	100	100	100	100	100	100
AN-1	95.2381	93.75	93.3333	74.2857	109.0909	88.2353
AN-2	102.3809	91.6667	100	88.5714	106.0606	105.8823
AN-3	92.8571	77.0833	100	122.8571	103.0303	76.4706
AN-4	80.9524	75	116.6666	100	87.8788	94.1176
KT-1	100	114.5833	103.3333	111.4285	100	85.2941
KT-2	116.6666	100	113.3333	102.8571	93.9354	58.8235
KT-3	109.5238	95.8333	90	57.1428	90.9091	73.5294
NI-1	78.5714	106.25	113.3333	102.8571	84.8485	76.4706
NI-2	92.8571	133.3333	123.3333	102.8571	81.8182	70.5882
NI-3	83.3333	127.0833	116.6666	97.1428	81.8182	105.8823

- *) Aktivitas enzim lipase tanpa perlakuan dengan surfaktan
 **) Hasil rata-rata 2 ulangan perlakuan dengan dua ulangan analisis

Keterangan :

- AN-1 : SDS
 AN-2 : Niaproof
 AN-3 : N-lauroyl Sarcosine
 AN-4 : Dehydrocholic acid
 KT-1 : Cetyl trimethyl amonium bromide
 KT-2 : Cetyl pyridium chloride bromide
 KT-3 : Cetyl dimethyl amonium bromide
 NI-1 : Triton x-100
 NI-2 : Tergitol
 NI-3 : Nonidet P-40

RALAT

No	Halaman	Baris	Tertulis	Yang Benar																				
1.	susunan pengantar	8 dari bawah	Ir. Widarti	Ir. Widari																				
2.	ii No. 1	1 dari atas	konvensi	konversi																				
	ii No. 6	11 dari bawah	kareakterisasi	karakterisasi																				
	ii No. 9	3 dari bawah	epaksi	epoksi																				
3.	1 (judul)	2 dari atas	TMBAL	TIMBAL																				
	2	2 dari atas	diman	dimana																				
	3	12 dari bawah	Ft2	Ft ²																				
	3	7 dari bawah	dengan kulit - deng an kulit	dengan kulit																				
	4 (tabel)	8 dari atas	berat rata-rata (Ft ² /kg)	berat rata-rata (kg/Ft ²)																				
	5 (tabel)	3 dari atas	berat rata-rata (Ft ² /kg)	berat rata-rata (kg/Ft ²)																				
	7	8 dari atas	dikarena	dikarenakan																				
	6 (tabel)		<table><tr><td>7</td><td>2.00</td><td>1.90</td><td>95.00</td></tr><tr><td>8</td><td>dst</td><td>dst</td><td>dst</td></tr></table>	7	2.00	1.90	95.00	8	dst	dst	dst	<table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td></tr><tr><td>7</td><td>2.00</td><td>1.90</td><td>95.00</td></tr><tr><td>dst</td><td>dst</td><td>dst</td><td>dst</td></tr></table>	1	2	3	4	7	2.00	1.90	95.00	dst	dst	dst	dst
7	2.00	1.90	95.00																					
8	dst	dst	dst																					
1	2	3	4																					
7	2.00	1.90	95.00																					
dst	dst	dst	dst																					
4.	19	3 dari bawah 3 dari bawah	(14 , 76) kulit ikan balida yang	(1976) kulit ikan yang																				
5.	20	11 dari atas 17 dari atas 12 dari bawah 11 dari bawah 4 dari bawah 1 dari bawah	pross daya tegang kulit Na 2S , H2SO4 Na2 SO3 BBKP labolatorium	proses daya regang kulit Na ₂ S , H ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₃ BBKKP laboratorium																				
6.	21 (tabel)	11 dari atas 1 dari bawah	254.39 (awetan garaman)	254.12 (awetan garaman) dan kita seandainya tolok ukur yang digunakan SNI. 06-0234-1989 (mutu dan cara uji kulit boks).																				
		10 dari bawah	dianalisa analisa varian's	dianalisa dengan analisa varian's.																				
7.	22	3 dari atas	barang jadi mau pun	barang jadi walaupun dikenakan perlakuan fisis yang kuat sewak- tu pengolahan barang jadi dst.																				
	23	1 dari bawah 22 dari atas 24 dari atas	199 dari tetap tahun	1992 dari modal tetap 1 tahun																				
8.	51	2 dari atas	Rp. 52.316.806	Rp. 52.315.806																				
9.	55	6 dari bawah 4 dari bawah	561.600.00 2.246.400,00	Rp. 561.600.00 Rp. 2.246.400,00																				
10.	57	7 dari atas 14 dari bawah	Compoun pelepisan plastik epksi	Compound pelapisan plastik epoksi																				
11.	59	13 dari bawah	58,4	58,4 shored																				
12.	60	8 dari bawah	harder	hardener																				